



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 195 43 052 A 1

⑤① Int. Cl. 6:
C 07 H 19/20
C 07 H 1/06

⑳ Aktenzeichen: 195 43 052.2
㉔ Anmeldetag: 6. 11. 95
㉕ Offenlegungstag: 7. 5. 97

DE 195 43 052 A 1

㉗ Anmelder:
Schering AG, 13353 Berlin, DE

㉘ Erfinder:
Tilstam, Ulf, Dr., 13359 Berlin, DE; Schmitz, Thomas,
Dr., 10997 Berlin, DE; Nickisch, Klaus, Dr., 12307
Berlin, DE

⑤⑤ Entgegenhaltungen:
US 43 57 324

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

- ⑤④ Verfahren zur Herstellung und Reinigung von Fludarabin-Phosphat und die Verwendung von sauren Ionenaustauschern im Verfahren
- ⑤⑦ Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung und Reinigung von Fludarabinphosphat und die Verwendung von sauren Ionenaustauschern im Verfahren.

DE 195 43 052 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung und Reinigung von Fludarabinphosphat und die Verwendung von sauren Ionenaustauschern zur Herstellung und Reinigung von Fludarabin-phosphat.

Fludarabin-phosphat ist der "International Nonproprietary Name" (INN) von 9H-Purin-6-amino-2-fluor-9-(5-O-phosphono-β-D-arabinofuranosyl)-dihydrogenphosphat. Die erste Synthese der Vorstufe des Fludarabin-phosphat, dem 9-β-D-Arabinofuranosyl-2-fluoroadenin wird in US-PS 4,188,378 beschrieben. Diese Substanz weist stark cytotoxische Eigenschaften auf und es wurden verschiedene Derivate davon, mit dem Ziel der Reduzierung von Nebenwirkungen, hergestellt. Innerhalb der US-PS 4,357,324 wird das 5'-Phosphat (Prodrug), also das Fludarabin-phosphat und dessen Herstellung beschrieben. In weiteren Schriften, beispielsweise US-PS 4,210,745, WO 91/08215, WO 94/12514 und DE 41 41 454 A1, werden alternative Herstellungsverfahren beschrieben.

Der derzeit benutzte Herstellungsweg geht von 9-β-D-Arabinofuranosyl-2-fluoroadenin aus, das mit Trimethylphosphat und Phosphoroxychlorid umgesetzt wird (Phosphorylierung). Diese Edukte werden umgesetzt und anschließend aus Wasser kristallisiert. Die bei der Umkristallisation anzuwendende Temperatur von etwa 75°C zerstört einen Teil der Substanz, da Fludarabin-phosphat bei dieser Temperatur thermisch instabil ist. Nachteilig ist weiter, daß diese aus dem Stand der Technik bekannte Umkristallisation nur zu einer schwachen Verbesserung der Reinheit führt und das Verfahren nur in kleinen Ansatzgrößen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist ein verbessertes Herstellungs- und Reinigungsverfahren bereitzustellen, welches zu einer deutlich verbesserten Qualität von Fludarabin-phosphat führt und was im großtechnischen Verfahren problemlos auch auf große Mengen angewendet werden kann.

Gelöst wird diese Aufgabe gemäß der Lehre der Patentansprüche.

Das beschriebene Verfahren zur Herstellung und Reinigung von Fludarabin-phosphat geht vom Rohprodukt aus, daß durch Umsetzung von 9-β-D-Arabinofuranosyl-2-fluoroadenin mit Trimethylphosphat und Phosphoroxychlorid erhalten wird. Dieses Rohprodukt wird durch Umkristallisation aus entsalztem Wasser, bei Anwesenheit von 20–200 Gewichtsprozent eines sauren, kationischen Ionenaustauscher bezogen auf die eingesetzte Menge Fludarabin-phosphat und gegebenenfalls Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert.

Mit Vorteil erfolgt die Umkristallisation bei Temperaturen von 70–90°C, vorzugsweise 85–90°C, mit besonderem Vorteil bei 88°C.

Als zu verwendende saure, kationische Ionenaustauscher eignen sich beispielsweise Amberlite, Duolite, IRC 50, Dowex oder deren Gemische davon.

Bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens erhält man Fludarabin in einer deutlich verbesserten Qualität und mit einer Gesamtausbeute von über 70%.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

BEISPIEL 1

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser bei 88°C gelöst und heiß filtriert. Die

klare Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und 3 Tage gerührt, um aus dem Gel ein Kristallisat zu erhalten, anschließend wird abgesaugt und mit Wasser und Ethanol gewaschen. Das erhaltene Kristallisat wird getrocknet, 6,0 g (60% d. Th.).

BEISPIEL 2

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser bei 88°C gelöst und 15 g Ionenaustauscher A252 C werden zugegeben. Die Lösung mit dem Tauscher wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 5,4 g (54% d. Th.).

BEISPIEL 3

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser bei 88°C gelöst und 15 g Ionenaustauscher A252 C und 2 g Aktiv Kohle werden zugegeben. Die Mischung wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung wird auf Raumtemperatur gekühlt. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 5,0 g (50% d. Th.).

BEISPIEL 4

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser bei 88°C gelöst und 15 g Ionenaustauscher Duolite CU 33 wird zugegeben. Die Lösung mit dem Tauscher wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung darf von alleine auf Raumtemperatur kommen. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 5,2 g (52% d. Th.).

BEISPIEL 5

20,0 g (54,8 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser bei 88°C gelöst und 4 g Ionenaustauscher IRC 50 zugegeben. Die Lösung mit dem Tauscher wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung darf von alleine auf Raumtemperatur kommen. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 14,4 g (72% d. Th.).

BEISPIEL 6

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser + 88°C gelöst und 2 g Ionenaustauscher AXAD-7 wird zugegeben. Die Lösung mit dem Tauscher wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung darf von alleine auf Raumtemperatur kommen. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 7,4 g (74% d. Th.).

BEISPIEL 7

10,0 g (27,4 mmol) Fludarabin-phosphat wird in 150 ml Wasser + 88°C gelöst und 15 g Ionenaustauscher Dowex SOX2-200 wird zugegeben. Die Lösung 5 mit dem Tauscher wird 8 Min. gerührt und anschließend schnell filtriert. Die klare Lösung darf von alleine auf Raumtemperatur kommen. Die Kristallsuspension wird über Nacht bei RT stengelassen, anschließend wird abgesaugt und das Kristallisat mit Wasser und Ethanol 10 gewaschen. Nach der Trocknung erhält man 6,5 g (65% d.Th.).

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung und Reinigung von Fludarabin-phosphat aus 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenin, Trimethylphosphat und Phosphoroxchlorid, dadurch gekennzeichnet, daß das erhaltene feste Reaktionsprodukt (Kristallisat) aus 20 entsalzten Wasser bei Anwesenheit von 20–200 Gew.% sauren, kationischen Ionenaustauscher, bezogen auf die eingesetzte Menge Fludarabin-phosphat und gegebenenfalls Aktivkohle, umkristallisiert wird. 25
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Umkristallisation bei Temperaturen von 70–90°C durchgeführt wird.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß als saurer Ionenaustauscher 30 Amberlite, Duolite, ICR 50, Dowex oder Gemische davon verwendet werden.
4. Verwendung von sauren Ionenaustauscher zur Herstellung und Reinigung von Fludarabin-phosphat. 35

40

45

50

55

60

65

VERIFICATION OF TRANSLATION

I, Melissa Stanford, a translator with Chillson Translating Service, 3530 Chas Drive, Hampstead, Maryland, 21074, hereby declare as follows:

That I am familiar with the German and English languages;

That I am capable of translating from German to English;

That the translation attached hereto is a true and accurate translation of German Application 195 43 052.2 titled, "Process for the Production and Purification of Fludarabine Phosphate and the Use of Acidic Ion Exchangers in the Process;"

That all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true;

And further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any registration resulting therefrom.

By Melissa Stanford

Executed this 3 day of July 2003.

Witness Anne Chilla-

(19) **FEDERAL REPUBLIC OF GERMANY**

GERMAN PATENT OFFICE

(12) **Laid-Open Specification**

(10) **DE 195 43 052 A 1**

(21) File number: 195 43 052.2

(22) Application date: 11/6/95

(43) Date laid open: 5/7/97

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 H 19/20

C 07 H 1/06

(71) Applicant:

Schering AG, 13353 Berlin, DE

(72) Inventors:

Tilstam, Ulf, Dr., 13359 Berlin, DE; Schmitz, Thomas, Dr., 10997 Berlin, DE;

Nickisch, Klaus, Dr., 12307 Berlin, DE

(55) Citations:

US 43 57 324

The request for examination according to §44 of the Patent Law has been made

(54) Process for the Production and Purification of Fludarabine Phosphate and the Use of Acidic Ion Exchangers in the Process

(57) The invention relates to a process for the production and purification of fludarabine phosphate and the use of acidic ion exchangers in the process.

The following information is taken from the documents filed by the applicant. 3/23

FEDERAL PRINTING OFFICE 3/97 702 019/406

Description

The invention relates to a process for the production and purification of fludarabine phosphate and the use of acidic ion exchangers for the production and purification of fludarabine phosphate.

Fludarabine phosphate is the "International Nonproprietary Name" (INN) of 9H-purine-6-amino-2-fluoro-9-(5-0-phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-dihydrogen-phosphate. The first synthesis of the precursor of fludarabine phosphate, the 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine, is described in US-PS 4,188,378. This substance exhibits strong cytotoxic properties, and various derivatives of it were produced with the purpose of reducing side effects. Within US-PS 4,357,324, the 5'-phosphate (prodrug), i.e., the fludarabine phosphate and its production, is described. In further publications, for example US-PS 4,210,745, WO 91/08215, WO 94/12514 and DE 41 41 454 A1, alternative production processes are described.

The production method that is now used starts from 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine, which is reacted with trimethyl phosphate and phosphorus oxychloride (phosphorylation). These educts are reacted and then crystallized from water. The temperature of about 75°C that is to be used in the recrystallization destroys a portion of the substance, since fludarabine phosphate is thermally unstable at this temperature. It is further disadvantageous that this recrystallization that is known from the prior art results only in a weak improvement of purity and the process results only in small batch sizes.

The object of this invention is to provide an improved production and purification process that results in a considerably improved quality of fludarabine phosphate and that in an industrial-scale process can also be applied even to large amounts.

This object is achieved according to the teaching of the claims.

The described process for the production and purification of fludarabine phosphate starts from the crude product that is obtained by reaction of 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine with trimethyl phosphate and phosphorus oxychloride. This crude product is recrystallized by recrystallization from demineralized water in the presence of 20-200% by weight of an acidic, cationic ion exchanger relative to the amount of fludarabine phosphate that is used and optionally the addition of activated carbon.

The recrystallization advantageously is carried out at temperatures of 70-90°C, preferably 85-90°C, especially advantageously at 88°C.

As acidic, cationic ion exchangers that are to be used, for example, Amberlite, Duolite, IRC 50, Dowex, or mixtures thereof are suitable.

When using the process according to the invention, fludarabine is obtained in a considerably improved quality and with a total yield of over 70%.

The following examples are to explain the invention in more detail.

EXAMPLE 1

100 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water at

88°C and hot-filtered. The clear solution is cooled to room temperature and stirred for 3 days to obtain a crystallizate from the gel, then it is suctioned off and washed with water and ethanol. The crystallizate that is obtained is dried, 6.0 g (60% of theory).

EXAMPLE 2

10.0 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water at 88°C, and 15 g of ion exchanger A252 C is added. The solution is stirred with the exchanger for 8 minutes and then quickly filtered. The clear solution is cooled to room temperature. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 5.4 g (54% of theory) is obtained.

EXAMPLE 3

10.0 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water at 88°C, and 15 g of ion exchanger A252 C and 2 g of activated carbon are added. The mixture is stirred for 8 minutes and then quickly filtered. The clear solution is cooled to room temperature. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 5.0 g (50% of theory) is obtained.

EXAMPLE 4

10.0 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water at 88°C, and 15 g of ion exchanger Duolite CU 33 is added. The solution is stirred with the

exchanger for 8 minutes, and then it is quickly filtered. The clear solution must come to room temperature by itself. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 5.2 g (52% of theory) is obtained.

EXAMPLE 5

20.0 g (54.8 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water at 88°C, and 4 g of ion exchanger IRC 50 is added. The solution is stirred with the exchanger for 8 minutes and then quickly filtered. The clear solution must come to room temperature by itself. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 14.4 g (72% of theory) is obtained.

EXAMPLE 6

10.0 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water + 88°C, and 2 g of ion exchanger AXAD-7 is added. The solution is stirred with the exchanger for 8 minutes and then quickly filtered. The clear solution must come to room temperature by itself. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 7.4 g (74% of theory) is obtained.

EXAMPLE 7

10.0 g (27.4 mmol) of fludarabine phosphate is dissolved in 150 ml of water + 88°C, and 15 g of ion exchanger Dowex SOX2-200 is added. The solution is stirred with the exchanger for 8 minutes and then quickly filtered. The clear solution must come to room temperature by itself. The crystal suspension is allowed to stand overnight at room temperature, then it is suctioned off, and the crystallizate is washed with water and ethanol. After drying, 6.5 g (65% of theory) is obtained.

CLAIMS

1. Process for the production and purification of fludarabine phosphate that consists of 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine, trimethyl phosphate and phosphorus oxychloride, characterized in that the solid reaction product that is obtained (crystallizate) is recrystallized from demineralized water in the presence of 20-200% by weight of an acidic, cationic ion exchanger, relative to the amount of fludarabine phosphate that is used and optionally activated carbon.
2. Process according to claim 1, wherein the recrystallization is performed at temperatures of 70-90°C.
3. Process according to claims 1 and 2, wherein as acidic ion exchangers, Amberlite, Duolite, ICR 50, Dowex or mixtures thereof are used.
4. Use of acidic ion exchanger for the production and purification of fludarabine phosphate.